

Onderzoeker spoort leven op met DNA uit watermonsters

# CSI op zee

Geef hem een liter zeewater en een uurtje of vier de tijd. Dan vertelt Reindert Nijland je precies welke vissen er in dat water hebben gezwommen. Het lijkt wel CSI, maar dan echt. En hij heeft er niet eens grote apparatuur voor nodig.

tekst Roelof Kleis foto's Aldo Allesie



**M**oleculair bioloog Reindert Nijland van de leerstoelgroep Mariene Dierecologie pakt een fotrugzak uit de kast. Daarin zit zijn mobiele DNA-laboratorium, met alles wat nodig is om genetische analyses te doen aan de hand van *environmental DNA*, oftewel e-DNA. Met e-DNA wordt al het genetisch materiaal aangeduid dat organismen in het milieu achterlaten. Schubben, slijm en uitwerpselen bijvoorbeeld. Organisch afval dat voortdurend als een soort vingerafdruk in het water terechtkomt.

## DNA-VELDGIDS

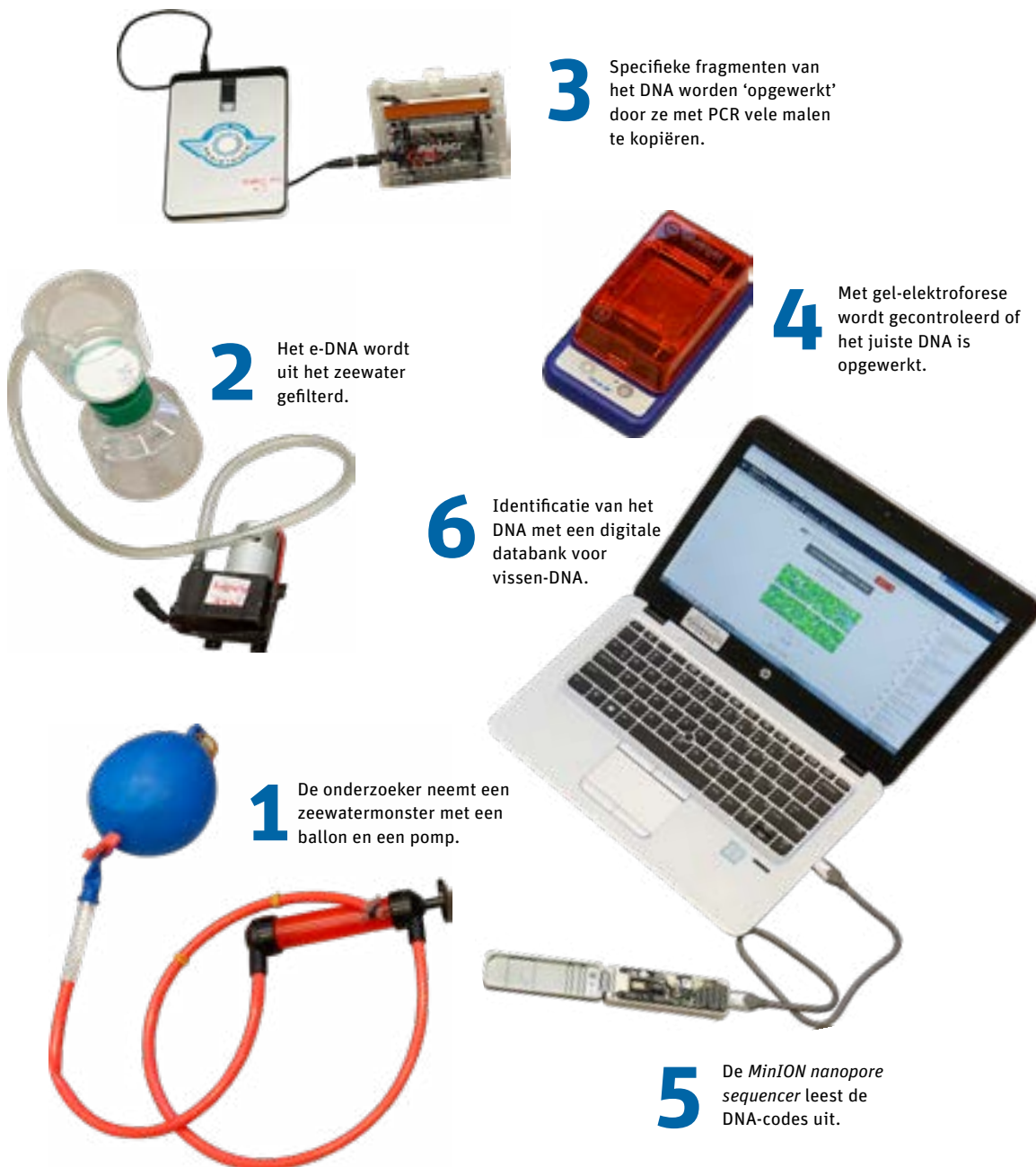
Met de juiste technieken kun je dat genetische spoor oppikken, versterken, uitlezen en herleiden tot de voormalige eigenaar. Met name het uitlezen of *sequencen* (de volgorde bepalen) van de letters van de genetische code maakt een stormachtige ontwikkeling door. Met als meest verbluffende stukje hightech de *MinION nanopore sequencer* waarmee Nijland werkt (zie kader). Het ding, nauwelijks groter dan een nietmachine, leest in razend tempo DNA-codes uit. Om precies te zijn: 200.000 letters (basen) per seconde. De MinION jaagt er in anderhalf uur zo'n 800.000 fragmenten DNA door van elk 2000 baseparen lang.

Maar aan die data heb je pas iets als je die codes kunt identificeren, vervolgt Nijland. En daar zat lange tijd de bottleneck. 'Voor het identificeren van soorten is een database nodig met zogeheten barcodes, stukjes genetische code, die uniek zijn voor een bepaalde soort. Je kunt het vergelijken met een veldgids. Zonder die gids kun je niks.'

## HOUBAARHEID VAN EEN SPOOR

Voor vissen die in de Noordzee voorkomen, is zo'n database er sinds kort. En daardoor is het nu mogelijk om met e-DNA te monitoren of ergens een bepaalde vis is geweest of niet. 'Het zegt in principe weinig over aantallen van die soort en dus populaties', benadrukt Nijland. De methode is nog jong. De mogelijkheden en beperkingen zijn nog volop in studie.

Hoe lang blijft een vissenspoor bijvoorbeeld detecteerbaar? 'Voor e-DNA in zout water gaat het eerder om uren dan om dagen', zegt Nijland. 'Een vis die langer verblijft, laat meer mate-



**2** Het e-DNA wordt uit het zeewater gefilterd.

**3** Specifieke fragmenten van het DNA worden 'opgewerkt' door ze met PCR vele malen te kopiëren.

**4** Met gel-elektroforese wordt gecontroleerd of het juiste DNA is opgewerkt.

**6** Identificatie van het DNA met een digitale databank voor vissen-DNA.

**1** De onderzoeker neemt een zeewatermonster met een ballon en een pomp.

**5** De *MinION nanopore sequencer* leest de DNA-codes uit.

## E-DNA VAN VISSEN IDENTIFICEREN MET DE MINION

Onderzoeker Reindert Nijland identificeert *environmental DNA* (e-DNA) van Noordzeevis met een vernuftig apparaatje: de *MinION nanopore sequencer*. Het proces begint met het nemen van een watermonster. Nijland is duiker en doet dat werkje graag zelf. Hij gebruikt felblauwe ballonnen. 'Gewoon van de Action. Die zijn stevig en goedkoop.' Vervolgens filtert Nijland het DNA uit het water en isoleert dat. Daarna versterkt hij het DNA-signaal waarin hij geïnteresseerd is, namelijk dat van vissen. Dat gebeurt door een stukje mitochondriaal DNA dat specifiek is voor vissen met *polymerase chain reaction* (PCR) een paar miljard keer te kopiëren. Het opgewerkte vissen-DNA, barcodes van 2000 basenparen (letters) lang, is dan klaar om uitgelezen te worden door de MinION. Het leesprincipe is vernuftig. 'Enkelstrengs DNA-fragmenten passeren in het apparaat een plaatje met kanaaltjes – nanoporiën – waar spanning op staat', legt Nijland uit. 'De passerende basen, oftewel de letters van de DNA-code, zorgen voor weerstand in het kanaal; elke letter op zijn eigen manier. Dat verschil in weerstand vertaalt zich in een wisselend elektrisch signaal, dat gekoppeld is aan de letters van de genetische code.' Het apparaatje werkt razendsnel. Elk van de 500 poriën leest 400 letters per seconde.

riaal achter en is dus makkelijker aan te tonen. Maar ook een vis die net is langs gezwommen, kun je detecteren. Ook met de ruimtelijke factor zijn we nog bezig. Bij vissenhotels – betonnen constructies waar vissen kunnen schuilen – die zijn uitgezet in het Haringvliet, zien we dat detectie erg lokaal kan zijn. 50 meter bij het hotel vandaan vinden we bijvoorbeeld geen DNA van de zwartbekgrondel, terwijl de vissen dichtbij het hotel massaal aantoonbaar zijn.'

### IMPACT VAN VISSERIJ

Eén van de toepassingen van de MinION is het Europese GEANS-project, wat staat voor *Genetic tools for Ecosystem health Assessment in the*

*North Sea region*. Het project onderzoekt de mogelijkheid om de huidige monitoring van het bodemleven in de Noordzee te vervangen door analyse van e-DNA. Die methode gaat uit van bodemmonsters waaruit het DNA wordt geïsoleerd en gesequenced. WUR is nauw betrokken bij dit project. Nijland: 'De Noordzee wordt intensief gemonitord om de impact van visserij, windmolens, zandwinning en dergelijke in kaart te brengen. Dat kost veel tijd en geld. Met de analyse van e-DNA kan het mogelijk een stuk sneller en goedkoper. Wij trekken binnen dit project de harmonisatie en standaardisatie van de methode.' Nijland twijfelt niet aan het succes van de methode. 'De groot-

ste uitdaging is om de collega's in Europa te overtuigen dat *n nanopore sequenzen* dé standaard zou kunnen worden.'

### BRUINVISSEN

Volgens de onderzoeker is er nog veel meer mogelijk met de nieuwe methode. Identificatie van een individueel dier bijvoorbeeld, droomt hij hardop. 'Voor vissen is dat ondoenlijk. Daarvan zijn er gewoon te veel. Maar de manier die wij gebruiken om vissen-DNA op te werken, pikt ook zoogdier-DNA op. Voor bruinvissen zijn we nu zo'n individuele identificatie aan het ontwikkelen. Dan heb je dus een vingerafdruk van een individueel dier dat je nog nooit hebt gezien.'